

2) Opisywanie wyniku w jednostkach międzynarodowych może nastąpić wówczas, gdy dana pracownia dysponować będzie surowicą standardową lub jej krajowym odpowiednikiem oraz standardowym antygenem. Ponieważ odczyn zlepný doczekał się międzynarodowej standaryzacji, a odczyn wiązania dopełniacza jej jeszcze nie posiada, oba zaś te odczyny w Polsce są obowiązujące i stanowią podstawę do praktycznego, terenowego komentarza diagnostycznego, zachodzi potrzeba takiego ujednoczenia sposobu podawania wyników, aby do czasu zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd nie wprowadzać do praktyki zbyt często zmieniających się wytycznych.

3) Obowiązujące obecnie wytyczne urzędowe i aktualnie przyjęte w praktyce terenowej komentarz diagnostyczny wyników serologicznych opiera się na podawaniu wyników w postaci miana. Miana owd w Polsce są formułowane odmiennie niż przyjęto za granicą. Ten sposób opisywania wyników owd ma znaczenie praktyczne. Wydaje się, że do czasu zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd i wprowadzenia jednostek, celowe jest stosowanie dotychczasowego sposobu formułowania wyników owd. Podawanie przez WZHW wyników aglutynacji w jednostkach a wyników owd w mianach wg formuły zagranicznej (tj. od 1:5) przekreśliłoby możliwość stosowania wymienionego komentarza, a więc zdezaktualizowałoby wszystkie obowiązujące wytyczne urzędowe mówiące o dokonywaniu rozpoznania na podstawie wzajemnego stosunku wysokości miana jednego odczynu względem drugiego.

4) Prace doświadczalne wykazały (11), że metoda owd przyjęta od lat w Polsce jest bardzo zbliżona do metody jaka prawdopodobnie będzie uznana za standardową, przy czym międzynarodowy wzorzec surowicy do owd. jakim najprawdopodobniej będzie ISS, daje w metodzie polskiej wyniki, które wskazują, że w razie zatwierdzenia standardu, metoda polska ulegnie nieznacznym zmianom lub w ogóle nie zaistnieje taka potrzeba.

5) W przypadku zatwierdzenia międzynarodowego standardu owd oraz przyjęcia zasady, że standardowa surowica zawierać będzie 1000 m. j. wd./ml, a kry-

terium rozpoznawcze wynosić będzie 1/25 tej wartości, tj. 40 m. j. wd. — polski komentarz diagnostyczny stosowany w terenowej pracy lekarzy wet. nie zatraci aktualności, jeżeli wyniki będą formułowane w obu odczynach tylko przy pomocy jednostek aglutynacyjnych (od 50) i wiązania dopełniacza (od 40).

6) Na okres przejściowy wydaje się celowe ograniczyć formułowanie wyników (nawet po wprowadzeniu antygeny standaryzowanego do aglutynacji) do sposobu dotychczas przyjętego, tj. podawać wyniki w obu odczynach w postaci mian rozpoczynających się od 1:25.

7) W pracach naukowych, oraz przy podawaniu wyników dla celów eksportowych, czy importowych należałoby wyniki aglutynacji formułować w jednostkach przyjętych wg standaryzacji międzynarodowej a wyniki owd w postaci mian rozpoczynających się od 1:5.

Piśmiennictwo

1. Alton G. G., Jones, L.: Laboratory techniques in brucellosis, Anim. Health Branch Monogr. Nr. 7, FAO, 1963.
2. Bürki F.: Standardization of the complement fixation test for brucellosis, WHO/Bruc. 227, 1964.
3. Hill W. K. W.: Standardization of the complement fixation test for brucellosis, Bull. OJE, 60 (401—417), 1963.
4. Instrukcja Dep. Wet. Min. Rol. o wykonywaniu w WZHW aglutynacji i odczynu wiązania dopełniacza, 1964.
5. Ulbrich F., Scheibner E.: Standardisierung der Komplembindungreaktion zum Nachweis der Brucellose, Berl. u. Münch. Wschr., 76, 4, (61—66), 1963.
6. Stableforth A. W.: The complement fixation test in bovine brucellosis, WHO/Bruc. 275, 1963.
7. Standardization of the complement fixation test, Vet. Publ. Health Unit WMO/Bruc. 232, 1963.
8. Strauch D.: Zur Frage der Beurteilung von Brucellose — Agglutinationstestern im Rahmen der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft, Tierärztl. Umschau, 13, 9, (481—5), 1963.
9. Wiśniowski J.: O możliwościach zwalczania brucelozą bydła w świetle nauki i obecnie obowiązujących przepisów, Med. Wet., 20, 11, (641—9), 1964.
10. Wiśniowski J., Królak M.: Uwagi na temat odczynu wiązania dopełniacza stosowanego w serologicznym rozpoznawaniu brucelozą bydła, Zvcie Wet. 40, 2, (42—7), 1965.
11. Wiśniowski J., Królak M.: Ocena metody odczynu wiązania dopełniacza stosowanej w Polsce przy rozpoznawaniu brucelozą bydła w świetle propozycji standaryzacji międzynarodowej (w druku w Pol. Arch. Wet., 1965).

Adres autora: doc. dr Jerzy Wiśniowski, Bydgoszcz, ul. Świerczewskiego 35.

FELIKS ANCZYKOWSKI, PELAGIA MURAT, LECHOSŁAW WAŁKOWSKI

Wartość diagnostyczna aglutynacji próbówkowej ze śluzem pochwowym krów w rozpoznawaniu brucelozy*)

Zakład Chorób Bydła IW w Puławach
Kierownik: doc. dr F. ANCZYKOWSKI

Zakład Sztucznej Inseminacji i Zwalczania Bezpłodności
IW w Bydgoszczy

Kierownik: prof. dr L. JAŚKOWSKI

W ocenie jakiegokolwiek próby rozpoznawczej bierze się zwykle pod uwagę tego rodzaju elementy jak składowe odczynu (komponenty), wyposażenie, technikę, swoistość wyników, praktyczną wartość metody i inne. W danym wypadku przedmiot rozważań można by schematycznie ująć w czterech głównych punktach, a mianowicie: 1. materiał rozpoznawczy, 2. technika próby, 3. wartość rozpoznawcza próby, i 4. ogólna ocena metody.

Ad 1. *Materiał rozpoznawczy.*

a) *Jednorodność materiału.* Śluz szyjkowy stanowi zmienną pod względem proporcji mieszaninę wydzieliny błony śluzowej macicy oraz błony śluzowej okolicy szyjki macicznej. Nie ma dotychczas żadnego dowodu, że poziom aglutynin anty-Brucella jest w obu wydzielinach zawsze jednakowy. Przeciwnie, można w

sposób uzasadniony domniemywać, że ilość tych przeciwciał bywa różna zależnie od okresu płciowego, fazy cyklu, w zdrowiu i w przebiegu schorzeń dróg rodnych itp. Między innymi wykazaliśmy regularny spadek, lub nawet zanik miana aglutynacyjnego poczynając od 1—3 przed wystąpieniem rui, w czasie rui i jeszcze w ciągu 1—5 dni po rui. Zależnie od miana surowicy krwi i stopnia domieszki krwi wzrasta odpowiednio miano śluzu w okresie krwawienia poronowego oraz po porodzie. W stanach chorobowych istnieje dodatnia korelacja pomiędzy występowaniem i nasileniem procesów zapalnych dróg rodnych a występowaniem i poziomem miana anty-Brucella śluzu pochwowego krów, których krew zawiera swoiste aglutyniny względem tej pałeczki. Ale wzmoczone wydzielanie rzadkiego śluzu wskutek podrażnienia śluzówki może powodować względny spadek miana, zwłaszcza, jeśli miano surowicy krwi nie jest wysokie. Zageszczanie śluzu sprzyja zwykle miana aglutynacyjnego tej wydzieliny (utrata wody). Duża wchłaniałość błony śluzowej i wysoka dynamika zaostrza-

*) Niniejsze doniesienie stanowi podsumowanie wyników badań własnych. Szczegółowy materiał dowodowy w postaci 7 odrębnych doniesień przekazano do opublikowania w Pol. Arch. Wet.

nia i cofania się w krótkich odstępach czasu procesów zapalnych, a być może inne jeszcze czynniki, sprawiają, że poziom aglutynin w śluzie pochwowym podlega gwałtownym zmianom w krótkich odstępach czasu. Naniesione na układ współrzędnych wyniki poszczególnych badań dają krzywą przypominającą wykres gorączki powrotnej; przy pobieraniu śluzu co drugi dzień wahania w jego mianie aglutynacyjnym sięgały 6-krotnej różnicy. Natomiast średnie tych wyników obrazują na wykresie faliste narastanie i opadanie miana synchronizujące z zaostreniami i cofaniem się procesów zapalnych. Jak wiadomo obserwuje się współcześnie wzrost lub dużą zapadalność wśród krów na nieżyty i zapalenia dróg rodnych, nie biorąc nawet pod uwagę krów chorych na brucelozę — zwierzęta bytują w środowisku niedoborowym (niedoborowe żywienie, wady w utrzymaniu itd.) i są intensywnie eksploatowane. Zachodzi wskutek tego spadek żywotności bydła, i zależnie od układów w poszczególnych biotopach podlegają krowy okresowo, lub przez okrągły rok stressowi, w przebiegu którego narząd rodny doznaje, jak się wydaje, szczególnego uszczerbku (patrz doniesienie V). W tych warunkach można się rzeczywiście liczyć ze wzrostem częstotliwości występowania miana aglutynacyjnego śluzu pochwowego, i to w sposób różnorodny — zależnie od stada, pory roku, wartości odżywczej paszy itd. Jest także pewien odsetek krów z organicznymi wadami pochwy (np. coprovagina), których śluz nie nadaje się do badania. Reasumując powyższe można powiedzieć, że śluz pochwoy przedstawia wysoce niejednorodny materiał diagnostyczny.

b) *Pobieranie materiału do badania.* Pobieranie śluzu pochwowego za pomocą wsysania do rurki (*Terpstra* i *Eisna* — 1950) nie jest w rutynowym badaniu ani dość szybkie, ani proste. W fazie diestrus, kiedy śluz jest najbardziej diagnostycznie reprezentatywny, zabieg często zawodzi z powodu zbyt małej ilości wydzieliny i w dodatku bardzo gęstej konsystencji. Poza tym usuwanie wydzieliny z rurki jest kłopotliwe, a przesyłanie do laboratorium całych rurek szklanych ze śluzem byłoby w masowych badaniach nierealne. Klinicznie zabieg jest brudny, mozolny i w pewnej mierze niepożądany epizootologicznie. Pobieranie próbek za pomocą tamponu (*Szabo* — 1951; *Jepsen* i *Vindekilde* — 1951) wiąże się z większym błędem technicznym próby. Poza tym ważenie tamponów jest mozolne, zaś posługiwanie się wypłuczynami z tamponów nie ważonych zmniejsza niewspółmiernie dokładność wyników. Dużą wadą stanowi konieczność znajomości fazy cyklu płciowego krowy w chwili pobierania materiału; nie powinno się pobierać śluzu w okresie przedruijowym, w przebiegu rui i co najmniej jeszcze przez następne 3 dni po ustąpieniu rui; z uwagi na ew. domieszkę krwi w okresie krwawienia porujowego nie powinno się pobierać śluzu jeszcze w ciągu następnych 7 dni. Należałoby zatem wykluczyć pobieranie śluzu w ciągu 10 dni po rui. Biorąc pod uwagę przeciętną długość cyklu płciowego u krowy 21 dni, pozostało by wobec tego zaledwie 8—9 dni do pobierania materiału. Nadomiar trzeba się liczyć z dużym zamieszaniem z powodu zaburzeń w regularności cyklu płciowego i jeszcze nie są znane właściwości śluzu w przebiegu cichej rui. W przypadkach ujemnego wyniku próby należało by pobrać materiał przynajmniej trzykrotnie w małych odstępach czasu (np. co drugi dzień); wskutek znacznych wahań w poziomie aglutynin jeden ujemny wynik jest mało reprezentatywny. Z drugiej strony przy nieostrożnym wielokrotnym pobieraniu materiału zachodzi często podrażnienie błony śluzowej, co z kolei może w różnorodny sposób obniżać wartość rozpoznawczą próbki. Ogólnie biorąc pobieranie śluzu pochwowego do aglutynacji próbówkowej jest kłopotliwe i wśród służby terenowej mogłoby się spotkać z uzasadnionymi zastrzeżeniami.

Ad 2. Technika próby

Laboratoryjne przygotowanie śluzu do badania jest kłopotliwe. Zwłaszcza nie należy do watorów próby sączenie eluatu przez bibułę w ciągu szeregu godzin i nastawianie aglutynacji dopiero na następny dzień. Samo nastawianie próby jest łatwe i szybkie, ale wyniki trzeba odczytywać uważnie. Przy odczytywaniu wymagają dużej ostrożności próbki, z którymi ujawnia się strefa zahamowania w pierwszych próbkach szeregu rozcieńczeń, bowiem właściwa strefa zahamowania występuje w aglutynacji ze śluzem wyjątkowo rzadko, o ile występuje w ogóle. Próbki ujawniające strefę zahamowania w środku szeregu, jak również dające osady wyraźnie nietypowe powinno się odrzucać w ogóle. Mogą też budzić zastrzeżenia zbyt wysokie miana śluzu. W tego rodzaju przypadkach wyśmienitą orientację stanowi zasada, że w warunkach naturalnych względne miano śluzu

$$\left(\frac{\text{miano śluzu pochwowego}}{\text{miano surowicy krwi}} \right)$$

nie wykracza poza wartość 4; poza tym im miano aglutynacyjne surowicy krwi jest wyższe, tym śluz pochwoy osiąga stosunkowo niższe wartości miana względnego. Reasumując powyższe można powiedzieć, że w stosunku do aglutynacji z surowicą krwi technika aglutynacji ze śluzem pochwowym jest nieco mierzalsza i daje wyniki mniej pewne.

Ad 3. Wartość rozpoznawcza próby

Brak aglutynacji z wypłuczyną śluzu, lub nawet dodatni wynik nie ma właściwie żadnego znaczenia praktycznego dla epizootiologa, a to z następujących powodów:

a) Śluz pochwoy przedstawia wysoce niejednorodny materiał rozpoznawczy i otrzymane wyniki, już nawet z tego powodu, nie nadają się do ich epizootologicznej interpretacji w badaniach rutynowych.

b) Istnieje liniowa zależność pomiędzy występowaniem i poziomem miana aglutynacyjnego śluzu pochwowego, a mianem tych przeciwciał w surowicy krwi. Przy czym średnia największa częstotliwość występowania miana śluzu jest z zasady wielokrotnie niższa aniżeli miano surowicy krwi. W tym względzie obserwacje nasze pokrywają się na ogół z wynikami *Kurakiny* (1962) która podała, że śluz pochwoy bywa dodatni ponad dwa razy rzadziej niż surowica krwi. Słusznie wydaje się zaznaczyć, że owa średnia największa częstotliwość bywa różna, tudzież zmienna u poszczególnych zwierząt i od populacji do populacji. Zdają się tu wywierać przemożny wpływ procesy zapalne, co oczywiście w dużym stopniu obniża reprezentatywność diagnostyczną wyników. Regularność występowania procesów zapalnych dróg rodnych krów chorych na brucelozę, i to na ogół proporcjonalnie do ciężkości przebiegu tej choroby, na domiar pojawienie się u naszych krów doświadczalnych aglutynin w śluzie dopiero po wywołaniu u nich sztucznie procesu zapalnego dróg rodnych — czynią wręcz nieodparte wrażenie, jakoby aglutynacja ze śluzem pochwowym była przede wszystkim próbą na wykrywanie stanów zapalnych tych dróg.

c) Wystąpienie aglutynacji ze śluzem pochwowym nie musi bynajmniej świadczyć o siewstwie brucelami u danej krowy. Wprawdzie teoretycznie biorąc można by nam zarzucić, że poczyniliśmy obserwacje na krowach tylko ze stada zarażonego brucelozą i że nie przeprowadziliśmy odpowiednio dokładnych badań bakteriologicznych błony śluzowej macicy i pochwy przyżyciowo i pośmiertnie, ale wydaje się dość nieprawdopodobny fakt, aby wszystkie te krowy były siewkami, zwłaszcza krowy ujemne w badaniu surowicy krwi (miano aglutynacyjne poniżej 50 j.m. i ujemny wynik odczynu wiązania dopełniacza) i w badaniu śluzu pochwowego (miano śluzu wystąpiło u nich dopiero po wywołaniu sztucznie zapalnego procesu błony śluzowej macicy i pochwy). Wydaje się także mało prawdopodobne siewstwo brucelami w drogach rodnych krów, których śluz

pochwowy zawierał przez szereg miesięcy aglutyniny anty-Brucella w następstwie uodpornienia tych zwierząt szczepionką (Dubansky i Dražan — 1961).

d) Okazały się płonne nadzieje wykorzystania tej próby do różnicowania krów szczepionych od chorujących na brucelozę. Z pracy Dubansky'ego i Dražana wynika niewątpliwie, że u zwierząt uodpornionych szczepionką przeciwko brucelozie zachodzi podobnie liniowa zależność miana śluzu pochwowego od miana surowicy krwi, jak u zwierząt stada zarażonego brucelozą. Również Kurakina była zdania, że nie udaje się odróżnić miana poszczepionego od miana zaistniałego wskutek zakażenia posługując się aglutynacją ze śluzem pochwowym krów.

e) W rutynowym badaniu można się liczyć z pewnym odsetkiem (do kilku %) przypadków nieswoistych wyników próby. Mimo sączenia wypłuczony przez bibułę, śluz niektórych próbek przedostaje się do przesączu i powoduje nieswoiste wypadanie zawiesiny — albo wydatnie zwiększa miano albo, co się jednak rzadziej zdarza, nieco je obniża. Tego rodzaju wyniki nasuwające trudności w ocenie mogą być w masowych badaniach niekiedy mylnie odczytywane, zwłaszcza jeśli próby nastawiało by się z zawiesiną niezabarwioną.

Ad 4. Ogólna ocena metody

Badania nad aglutynacją ze śluzem pochwowym jakie przeprowadzono dotąd w różnych krajach dowodzą, że owa próba nie dorównuje aglutynacji próbówkowej lub odczynowi wiązania dopełniacza wykonywanymi z surowicą krwi, dalej jest gorsza od aglutynacji próbówkowej z mlekiem odtłuszczonym, lub z serwatką i od próby pierścieniowej z mlekiem, a tym bardziej od bakteriologicznego badania płodu, popłodów i mleka. Naszym zdaniem aglutynacja ze śluzem pochwowym zupełnie nie nadaje się do rozpoznawania brucelozy w praktyce, ponieważ jej wyniki są w rutynowym badaniu niepewne i zwodnicze. Nadto pobieranie samego śluzu jest dość kłopotliwe i ograniczone w czasie (od 8 do 9 dni) w poszczególnych cyklach płciowych. Podwyższenie granicznej wartości miana dodatniego śluzu do 1:20, jak to sugerował Schmid (1957), nie podniosłoby wartości rozpoznawczej próby. Nie może też wpłynąć na ogólną ocenę omawianej metody zmiana techniki podana przez Waverena (1960), polegająca na przetrzymywaniu nastawionych rzędów aglutynacyjnych w 56° zamiast 37°.

Jednakże aglutynacja ze śluzem pochwowym może okazać się pożyteczna w pracach badawczych immunologicznych i patofizjologicznych. Śledzenie przez nas występowania i dynamiki zachowania się aglutynin anty-Brucella przy użyciu tej próby umożliwiło zwrócić uwagę na szereg problemowo ważnych procesów i zależności w narządzie rodnym, a nawet w całym organizmie, procesów dotychczas mało poznanych, lub nie zbadanych w ogóle. Między innymi okazało się konieczne podjęcie badań nad występowaniem, zakresem i trwaniem porażenia immunologicznego macicy i ew. pochwy w przebiegu brucelozy, jak również w przebiegu innych schorzeń i chorób zakaźnych u krów; nie mniej ważne byłyby badania nad wyjaśnieniem udziału klonalnych układów komórek w obronności narządu rodnego; z punktu widzenia patofizjologii osobniczej i populacyjnej okazuje się wreszcie nieodzowne prześledzenie w najbliższej przyszłości procesów i zmian w macicy, zachodzących w przebiegu stresu. Zatem wyniki aglutynacji ze śluzem pochwowym przemawiają za poszerzeniem i pogłębieniem badań nad narządem rodnym, który, jak się okazuje, nadal jest jeszcze mało poznany.

Adres autora: doc. dr Feliks Anczykowski, Puławy, Instytut Weterynarii.

Анчиковски Ф., Мурат П., Валковски Л. — **Материалы по диагностической ценности пробирочной реакции агглютинации с влагалищной слизью коров в диагностике бруцеллеза.**

Представлен синтез экспериментальных исследований а также актуальное состояние достижений науки относительно диагностической ценности реакции агглютинации с влагалищной слизью у коров. Авторы считают, что реакция неудовлетворяет актуальным требованиям, которым должна отвечать диагностическая проба. Реакция является непригодной при рутиновой диагностике бруцеллеза. Однако проба с влагалищной слизью может оказаться полезной в иммунологических и патофизиологических научных работах касающихся половых органов.

Anczykowski F., Murat P., Wałkowski L. — **On the diagnostic value of the tube agglutination test with vaginal mucus in the diagnosis of brucellosis.**

In the present paper our own experimental findings published as seven separate reports, have been summarized, and a critical view-point about the diagnostic value of the vaginal mucus agglutination test has been added.

In the author's view, it is impossible to get satisfactory results in routine diagnosis with the aid of the vaginal mucus test. This test should be excluded from diagnostic methods used in practice. However, the vaginal mucus test may be very helpful in immunological as in pathophysiological researches to be undertaken on the genital organ.

Anczykowski F., Murat P., Wałkowski L. — **La valeur diagnostique de l'agglutination en éprouvettes de la mucoosité vaginale des vaches dans le diagnostic de la brucellose.**

La communication constitue une synthèse des résultats de travaux expérimentaux publiés séparément et présente l'évaluation de la valeur diagnostique de l'agglutination de la mucoosité vaginale.

Les auteurs sont d'avis que l'agglutination de la mucoosité vaginale ne donne pas de résultats satisfaisants et que cette méthode devrait être éliminée de l'ensemble de méthodes du diagnostic de la brucellose dans la pratique. Cette épreuve peut toutefois être très utile dans les recherches immunologiques et patho-physiologiques sur l'organe génital.

Anczykowski F., Murat P., Wałkowski L. — **Diagnostischer Wert der Vaginalschleimagglutination in der Brucelladiagnose.**

Synthese der experimentellen Ergebnisse und Beurteilung des diagnostischen Werts der Agglutination mit dem Vaginalschleim der Kühe in der Brucelladiagnose sind dargestellt worden.

Die Vaginalschleimprobe entspricht nicht den Forderungen einer diagnostischen Probe und ist wertlos in der praktischen Routindiagnose. Sie kann aber dennoch in wissenschaftlichen immunologischen und pathophysiologicalen Arbeiten über Geschlechtsorgane ohne weiteres ausgenutzt werden.

GREENSTEIN E. T.: Pasta depilacyjna zawierająca tioglikolan wapniowy. (A chemical cream the presurgical removal of hair on animals). JAVMA 144:858 (1964).

Pasta depilacyjna zawierająca tioglikolan wapniowy, wodorosiareczek wapnia i strontu była z powodzeniem zastosowana do usuwania włosów przed zabiegiem operacyjnym u 8 psów, 4 kotów i 6 szt. zw. laboratoryjnych. Najpierw strzyżono włosy, następnie pastę szpatułką, po 14 min pastę usuwano drewnianą szpatułką, a skórę zmywano wilgotną gąbką.